MN 50

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS DIGITANOL-GLYKOSID DIGACETININ

von

WINRICH HAMMERSCHMIDT

1960

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS DIGITANOL-GLYKOSID DIGACETININ

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Winrich H a m m e r s c h m i d t
aus Königsberg

H a m b u r g
1960

Genehmigt von der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg
auf Antrag von Professor Dr. R. Tschesche

Prof. Dr. E. Otremba
Dekan

Hamburg, den 18. Januar 1960

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom September 1958 bis zum August 1960 in der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstitutes der Universität Hamburg ausgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. Rudolf Tschesche

danke ich herzlich für die Problemstellung, sowie für zahlreiche Anregungen und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich vielmals für die Gewährung eines Stipendiums.

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 5
II. Hauptteil 7
1. Isolierung des Digacetinins 7
2. Derivate der Isoreihe 7
A) Isodesacetyl-digacetinin (IIc) 7
B) Isodesacetyl-digacetigenin (IIa) 7
a) IIa aus Digacetigenin (Ib) und Desacetyl-digacetigenin (Ie) 7
b) IIa aus Isodes-acetyl-digacetinin .. 8
C) Isodigacetigeninacetat (IIb) 8
D) Isodesacetyl-digacetigeninmonoxim (IId) 8
3. A) Desacetyl-digacetigeninmonoxim (Ig) ... 9
B) Digacetigenindiacetat (If) 9
4. Dihydro-digacetigeninacetat (V) 9
5. Nachweis der Δ^5-3-ol-Gruppierung 10
A) Durch Oppenauer-Oxydation 10
a) Allgemeines 10
b) Ox_1= Δ^4-3-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IIIa) 11
c) Ox_2= Δ^4-3-Dehydroisodesacetyl-digacetigenin (IIIb) 11
d) Ox_3 11
B) Die Reaktion nach Witter und Stone 12
6. Weitere Oxydationsversuche 12
A) Die Oxydation mit Chromsäure in Pyridin 12
a) P_1= 20-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IV) 13
b) P_3 13
B) Oxydationsversuch mit CrO_3/Pyridin am Digacetigenin 13
C) Oxydationsversuch mit Bleitetraacetat . 13
7. Wasserabspaltungsversuche 14
A) Versuch mit $SOCl_2$ 14
B) Versuch mit HCl 14

8. Die Konstitution des Digacetinins 15
A) Die Formel 15
B) Begründung 15
a) Die Zuckerkomponente und die Acetylgruppen 15
b) Die Δ^5-3ß-OH-Gruppierung 16
c) Die Carbonylgruppen an C-11 und C-15 und die OH-Gruppen an C-8 und C-20 . 17
d) Die C/D-Ringverknüpfung 20
III. Experimenteller Teil 21
1. Allgemeines 21
2. Chromatographie der Ausgangsdroge 22
3. Isodesacetyl-digacetinin (IIc) 22
4. Isodesacetyl-digacetigenin (IIa) 24
5. Iso-digacetigeninacetat (IIb) aus IIa 25
6. Isodesacetyl-digacetigeninmonoxim (IId) aus IIa 26
7. Desacetyl-digacetigeninmonoxim (Ig) aus Ie 26
8. Digacetigenindiacetat (If) aus Ie 27
9. Dihydrodigacetigeninacetat (V) aus Id 27
10. Die Oxydation nach Oppenauer (IIIa und IIIb aus Ie) 28
11. Die Reaktion nach Witter und Stone 32
12. Die Oxydation mit Pyridin/Chromsäure 32
a) Oxydationsversuch mit Ib 32
b) Oxydationsversuch mit Ie 33
c) P_3 34
d) P_1= 20-Dehydrodesacetyl-digacetigenin . 35
13. Die Oxydation mit $Pb(OAc)_4$ 36
14. Oxydationsversuch mit CrO_3/Py an Isodesacetyl-digacetigenin (IIa) 36
15. Umlagerungsversuch mit 0,04 n methanolischer KOH an P_1 (IV) 36
16. Wasserabspaltungsversuche 37
a) mit $SOCl_2$ 37
b) mit HCl 37
Abkürzungen 39
Literaturübersicht 40

I. E I N L E I T U N G

Unsere Kenntnisse über die Digitanolglykoside

In den letzten Jahren wurden aus verschiedenen Digitalisarten neben den durch ihre Herzwirksamkeit charakterisierten Cardenoliden eine Reihe von cardiotonisch unwirksamen Glykosiden isoliert, deren Aglykon 21 C-Atome enthält und die, soweit aufgeklärt Steroide darstellen. [1,2] Die meisten habe ich bereits in meiner Diplomarbeit beschrieben. Zu ihnen ist in der letzten Zeit nur noch das Thapsifolein[3] hinzugekommen. Es hat die Bruttoformel $C_{28}H_{40}O_9$ und zerfällt bei der Hydrolyse in ein Mol Thapsifoligenin $C_{21}H_{28}O_5$ und D-Digitalose.

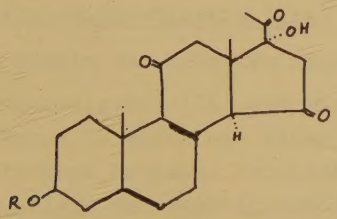
Eigenschaften des Thapsifoleins

Smp.	$[\alpha]_D$	UV-Spektrum (in mμ)	IR-Spektrum (in cm^{-1})
240	$-40,9^\circ$	295 ($\lg \varepsilon$ 2,0,35)	1738,1702,3455

Eigenschaften des Thapsifoligenins

249	$-74,2 \pm 5$	310 ($\lg \varepsilon$ 3,22)	

Sicher aufgeklärt konnte bisher von D. Satoh[4] nur das Digipronin werden. Ihm kommt die hier angegebene Formel zu.



Digipronin
R=D-Digitalose

Unsere Kenntnisse vom Digacetinin waren bisher nur sehr beschränkt[2]. Folgende Tatsachen waren bekannt. Es zerfiel bei einer vorsichtigen Säurespaltung in 3 Mol D-Digitoxose und einen Geninrest, das Digacetigenin. Im Digacetinin wurden 2, und im Digacetigenin 1 Acetylgruppe festgestellt. Sie konnten sowohl aus dem Glykosid als

auch aus dem Aglykon mit Bikarbonat agespalten werden. Das Digacetigenin ergab ebenso wie sein Desacetylderivat, das Desacetyl-digacetigenin ein einheitliches Acetylierungsprodukt, das Digacetigeninacetat (In meiner Diplomarbeit hatte ich diese Verbindung mit Peracetyldigacetigenin bezeichnet.), in dem 2 Acetylgruppen nachgewiesen wurden. Durch eine Oppenauer-Oxydation war eine Δ^5-3OH-Gruppierung wahrscheinlich gemacht worden. Dem IR-Spektrum nach mußten 2 CO-Gruppen vorhanden sein. Das Digacetigenin und das Digacetigeninacetat konnten inzwischen auch von Reichstein und Mitarb. isoliert werden.

II. HAUPTTEIL

1. Isolierung des Digacetinins (Ia)[x)]

Die Ausgangsdroge war dieselbe wie bei der früheren Isolierung des Digacetinins.[2)] Sie wurde in der gleichen Weise wie dort beschrieben aufgearbeitet.

2A) Isodesacetyl-digacetinin (IIc)

D. Satoh's Erfahrungen [4)] bei der schwach alkalischen Behandlung des Digipronogenins ließen es zweckmäßig erscheinen, analoge Versuche auch am Digacetinin vorzunehmen. So wurde Ia mit sehr verdünnter methanolischer KOH 16 Std. lang bei Zimmertemperatur behandelt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Rohprodukt mehrmals aus Aceton/Cyclohexan und einmal aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Die Analyse stimmte auf die Bruttoformel $C_{39}H_{60}O_{14}+H_2O$. Die CO-Banden im IR-Spektrum lagen bei 1748 und 1702 cm^{-1}.

Zur Gewinnung von IIc erwiesen sich auch Mischfraktionen, die neben Digacetinin noch Herzgifte enthielten, als gut geeignetes Ausgangsprodukt. (Nach der Alkalibehandlung blieben die Herzgifte größtenteils in der wässrigen Phase, während die Digitanol-glykoside in der Chloroformphase gelöst waren.)

2B) Isodesacetyl-digacetigenin (IIa)

Dieses Genin konnte auf mehreren Wegen erhalten werden.

a) IIa aus Digacetigenin (Ib) und Desacetyl-digacetigenin(Ie). Eine kleine Menge Ie wurde wie unter 2A beschrieben, mit schwach alkalischem Methanol behandelt. Nach der üblichen Aufarbeitung zeigte das Reaktionsprodukt im Papierchromatogramm neben unverändert gebliebenem Ausgangsprodukt einen neuen Fleck. Es war wahrscheinlich, daß es sich bei dieser Substanz um das dem Isodesacetyl-digacetinin (IIc) entsprechende Genin handelte. Um es rein darzustellen, wurde Digacetigenin (Ib) der Alkalibehandlung unterworfen. Neben sehr wenig unverändert gebliebenem Ib zeigte das Papier-

---

x) Die Formeln und die Bezeichnungen der Substanzen sind in einer Tabelle am Ende der Arbeit angegeben.

chromatogramm nach der Aufarbeitung die beiden Desacetylprodukte, die schon bei der Alkalibehandlung von Ie beobachtet worden waren. Nach einer Chromatographie an Al_2O_3 konnte IIa aus Aceton/Cyclohexan in gut ausgeprägten Prismen rein erhalten werden.

Die Analyse stimmte auf die Formel $C_{21}H_{30}O_5$. Die CO-Banden im IR-Spektrum lagen bei 1708 und 1728 cm^{-1} bzw. bei 1706 und 1742 cm^{-1} in $CHCl_3$.

b) IIa aus Isodesacetyl-digacetinin (IIc).
Nachdem IIa auf dem oben genannten Weg dargestellt worden war, wurde es auch aus IIc durch eine Hydrolyse mit 0,1n HCl in Methanol/Wasser (1:1) erhalten. Die Aufarbeitung wurde hier wie bei der Darstellung des Digacetigenins (Ib) beschrieben durchgeführt.[2] Nach einer anschließenden Chromatographie an Al_2O_3 konnten einzelne Fraktionen mit Aceton/Cyclohexan zur Kristallisation gebracht werden. Das erhaltene papierchromatographisch reine Produkt zeigte dieselben R_f-Werte und praktisch denselben Schmelzpunkt wie das aus Ib bzw. Ie isolierte Produkt. Auch bei manchen anderen Reaktionen entstand IIa als störendes Nebenprodukt, so z.B. bei der Oppenauer-Oxydation.

2C) Isodigacetigeninacetat (IIb)
Eine kleine Menge IIa wurde wie üblich in Pyridin/Essigsäureanhydrid 3:2 acetyliert. Das papierchromatographisch fast einheitliche Reaktionsprodukt konnte durch Umkristallisieren aus Benzol/Cyclohexan und Äther/Cyclohexan gereinigt werden.

Das Analysenergebnis stimmte auf die Formel $C_{25}H_{34}O_7$. Die Mikroacetylbestimmung x) [5] ergab zwei Acetylgruppen und das IR-Spektrum zeigte starke Banden bei 1750, 1730, 1706, 1381 und 1243 cm^{-1}.

2D) Isodesacetyl-digacetigeninmonoxim (IId)
Eine kleine Menge IIa wurde in mit Natriumacetat gepuffertem Methanol oximiert.[6] Das Reaktionsprodukt war fast einheitlich und konnte durch Umkristallisieren

---

x) Herrn Dr. G. Grimmer sei auch an dieser Stelle für die Durchführung der Acetylbestimmungen herzlich gedankt.

aus Methanol/Wasser gereinigt werden. Die Stickstoffbestimmung sprach für ein Monoxim der Bruttoformel $C_{21}H_{31}O_5N$. Im IR-Spektrum lag eine starke Bande bei 1733 cm^{-1}.

3A) Desacetyl-digacetigeninmonoxim (Ig)

Wie unter 2D beschrieben [6], wurde auch eine kleine Menge Ie oximiert. Das erhaltene papierchromatographisch fast reine Reaktionsprodukt wurde durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol/Wasser gereinigt. Der Stickstoffwert stimmte ebenfalls auf ein Monoxim der Bruttoformel $C_{21}H_{31}O_5N$ und das IR-Spektrum zeigte eine Bande bei 1722 cm^{-1}.

3B) Digacetigenindiacetat (If)

In der Absicht Wasser abzuspalten, wurde Ie in Essigsäureanhydrid gelöst und mit frisch geschmolzenem $KHSO_4$ erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung und einer Chromatographie an Al_2O_3 konnten aus einer Fraktion papierchromatographisch reine Kristalle erhalten werden. Das Analysenergebnis sprach gegen ein Anhydroprodukt und für das Acetat mit der Bruttoformel $C_{27}H_{36}O_8$. Die Mikroacetylbestimmung [5] ergab 3 Acetylgruppen. Das IR-Spektrum hatte Banden bei 1740, 1719, 1367 und 1235 cm^{-1} sowie eine schwache Schulter bei 1751 cm^{-1}.

4. Dihydro-digacetigeninacetat (V)

Eine kleine Menge Digacetigeninacetat (Id) wurde in Methanol mit 10% Pd auf Kohle hydriert und wie üblich aufgearbeitet. Leider konnte in Ermangelung einer Mikroapparatur die Wasserstoffaufnahme nicht quantitativ verfolgt werden. Das Analysenergebnis der kristallin erhaltenen Substanz paßte zur Bruttoformel $C_{25}H_{36}O_7$. Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1751, 1737, 1700 und 1238 cm^{-1}. Es war dem Spektrum des Digacetigeninacetates sehr ähnlich. Die Tetranitromethanreaktion war eindeutig negativ, während sie bei einer Vergleichslösung von Id deutlich positiv war. Es ist demnach nur die Äthylendoppelbindung hydriert worden.

5. Nachweis der Δ^5-3-ol-Gruppierung

5A) Durch Oppenauer-Oxydation [7,8]

a) Allgemeines

Da es mir früher [2] nicht gelungen war, die bei dieser Oxydation entstehenden Produkte zu isolieren, wurde diesmal eine größere Menge Ausgangsprodukt eingesetzt. Dabei konnten die in der folgenden Tabelle aufgeführten Produkte beobachtet werden.

Bez.	Löschung bei =256mμ	UV-Fluoresz. mit $SbCl_3$	KOH-Fluoresz. Reakt.	Menge geschätzt
Ox_7		0,93 (g)+)		+
Ox_5	0,87+)		+	+
Ox_6		0,80 (g)	+	++
Ox_3		0,62 (bl)	+	+++
Ox_1 (IIIa)	0,50		+	+++++
Ox_4		0,45 (bl)	+	++
Ie		0,38 (g)		+++++
Ox_2 (IIIb)	0,31		+	++++
IIa		0,23		++++

Die Schwierigkeit dieser Reaktion liegt weniger in der Durchführung als vielmehr in der Abtrennung noch nicht umgesetzter Ausgangssubstanz, sowie in der Reindarstellung der Reaktionsprodukte. Nach mehrmaliger Chromatographie an Al_2O_3 und Kieselgel gelang es mir durch fraktionierte Kristallisation, das gewünschte Δ^4-3 Dehydroprodukt zu isolieren. Daneben konnte ich noch das ihm entsprechende Isoprodukt erhalten. Die übrigen Produkte wurden nicht rein isoliert.

Bei der in der angegebenen Tabelle mit Ox_6 bezeichneten Substanz könnte es sich um ein in C-20 oxydiertes Produkt handeln. Es ist nach dem Papierchromatogramm mit einem bei der Chromsäure-Oxydation auftretenden Nebenprodukt (P_4) identisch. Ox_5 dürfte nach seinem R_f-Wert

---

+) Die Zahlen geben die R_f-Werte im Gemisch I und die kleinen Buchstaben (g=gelb;bl=blau) die Fluoreszenzfarbe an.

und seinen Farbreaktionen das interessante an C-3 und C-20 oxidierte Tetraketon sein. Bei Ox_3, das in sehr unreiner Form zusammen mit Ie und Ox_1 erhalten worden war, nahm ich zunächst an, daß es sich um das im C-3 oxidierte Δ^5-Keton handelte, da es das UV-Licht nicht löschte, mit $SbCl_3$ nur eine sehr schwach blaue und mit KOH eine intensiv gelbe Farbe im UV-Licht zeigte. Ich mußte diese Annahme jedoch fallen lassen, weil nach dem Kochen mit 0,1n HCl kein α,β-ungesättigtes Keton entstanden war, das sich ja durch ein entsprechendes UV-Maximum zu erkennen gegeben hätte.

Ox_1 ist das gewünschte Δ^4-3-Dehydroprodukt und Ox_2 die ihm entsprechende Isoverbindung. Dies wurde auch durch einen Umlagerungsversuch mit methanolischer KOH bewiesen. Ox_4 könnte nach dem R_f-Wert und der Anfärbbarkeit zu urteilen das Isoprodukt von Ox_3 sein.

b) Ox_1= Δ^4-3-Dehydrodesacetyl-digacetigenin+) (IIIa)
Das reine IIIa kristallisierte in kompakten Kristallen aus Aceton/Cyclohexan. Im Papierchromatogramm zeigte es eine Löschung des UV-Lichtes. Mit $SbCl_3$ gab es keine Farbreaktion, dagegen zeigte es nach dem Einsprühen mit KOH eine intensiv gelbe Fluoreszenz im UV-Licht. Die Analyse stimmte auf die Bruttoformel $C_{21}H_{28}O_5$. Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1748, 1692, 1667, bzw. 1616 cm^{-1}.

c) Ox_2= Δ^4-3-Dehydroisodesacetyl-digacetigenin (IIIb)
Die aus Aceton/Cyclohexan erhaltenen warzenförmigen Kristalle hatten einen Smp. von 210-220°C. Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 242 mμ (lg ε 4,13). Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1744, 1704 und 1656 cm^{-1}. Mit $SbCl_3$ zeigte IIIb im sichtbaren und im UV-Licht keine Färbung, mit KOH war es im UV-Licht gelb und ohne Anfärbung zeigte es eine starke Löschung bei 256 mμ. Der R_f-Wert im Gemisch I lag bei 0,31.

d) Ox_3
Das aus Aceton/Cyclohexan kristallin erhaltene Produkt war nicht völlig einheitlich und konnte der geringen Menge

+) Derivate des Digacetigenins, die die Doppelbindung von 4 nach 5 statt von 5 nach 6 haben, seien hier kurz als Δ^4-Digacetigenin-derivate bezeichnet.

wegen auch nicht weiter gereinigt werden. Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1739, 1714 und 1686 cm^{-1}.

Die übrigen Verbindungen der Oppenauer-Oxydation konnten nicht isoliert werden.

5B) Die Reaktion nach Witter und Stone [9]

Wie R. Witter und S. Stone zeigten, reagieren Δ^5-3β-OH-Steroide unter intensiver Rot- oder Blaufärbung mit Phenol und Ammoniummolybdat. Beim Digacetigenin angewandt wurde sofort eine Blaufärbung erhalten.

6. Weitere Oxydationsversuche

6A) Die Oxydation mit Chromsäure in Pyridin

Während bei der Oppenauer-Oxydation die Δ^5-3β-OH-Gruppierung schneller angegriffen wird als die 20-OH-Gruppe [8], ist bei der CrO_3-Oxydation eine umgekehrte Reihenfolge zu erwarten [10]. Wegen der Säureempfindlichkeit wurde hier nach Poos u. Mitarb. [11] in Pyridin gearbeitet. Das erhaltene Reaktionsprodukt wurde wie üblich aufgearbeitet und an Al_3O_3 chromatographiert.

Das Papierchromatogramm der Oxydationsprodukte zeigte folgende Flecken:

Bez.	nachdem Einsprühen mit $SbCl_3$	KOH	Menge geschätzt
P_4	0,79 (g)	+	+
P_3	0,78 (bl)	+	++
P_1 (IV)	0,62 (g)	+	+++++
P_2	0,41 (g)	+	+++
P_5	0,23 (g)	+	+

Die Substanzen P_2, P_4 und P_5 wurden nur in geringer Menge beobachtet und konnten nicht isoliert werden. P_2 steht wahrscheinlich zu P_1 in der gleichen Beziehung wie IIa zu Ie bzw. IIIb zu IIIa. Es entstand auch als Hauptprodukt bei einem im Mikromaßstab durchgeführten Oxydationsversuch von IIa mit CrO_3 in Pyridin neben P_5. Auch bei einem in alkalischer Methanollösung durchgeführten Umlagerungsversuch von P_1 wurde P_2 beobachtet.

a) P_1=20-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IV)
Mit dem Reagenz nach Kedde [12] reagierte IV schwach positiv. Das Analysenergebnis stimmte auf die Formel $C_{21}H_{28}O_5$. Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 291 m µ (lg 2,00) in Methanol und bei 289 mu (lg 2,15) in 0,04n methanolischer KOH. Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1748, 1702, 1688 und 1364 cm^{-1} in KBr und bei 1743, 1696, 1403 und 1361cm^{-1} in $CHCl_3$, daneben war hier noch eine Schulter bei 1718 cm^{-1} deutlich erkennbar.

b) P_3
Nach der Aufarbeitung der Chromsäure-Oxydation kristallisierte aus den ersten Fraktionen der Chromatographie an Al_2O_3 aus Aceton in geringer Menge ein papierchromatographisch einheitliches Produkt aus, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Chloroform/Äther/Cyclohexan einen konstanten Smp. von 259-264°C hatte. Im UV-Licht zeigte es keine Löschung, nach dem Einsprühen mit KOH [13] und Chlorosulfonsäure [14] aber eine gelbe und mit $SbCl_3$ eine schwach blaue Fluoreszenz. Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 281 mµ. Im IR-Spektrum lagen Banden bei 1751, 1710, 1690, 1402 und 1364cm^{-1}. Die Bande bei 1710cm^{-1} war wesentlich stärker als die entsprechende Bande (1702 cm^{-1}) in IV. Der geringen Menge wegen konnte P_3 nicht weiter untersucht werden.

6B) Digacetigenin, das noch eine Acetylgruppe enthält, wird unter diesen Bedingungen der CrO_3/Pyridin-Oxydation nicht angegriffen.

6C) Oxydationsversuch mit Bleitetraacetat [15]
Eine kleine Menge Ie wurde in Eisessig mit einer bekannten Menge Bleitetraacetatlösung in Eisessig 15 Std. lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Rücktitration mit n/100 Thiosulfatlösung ergab, daß kein Bleitetraacetat verbraucht worden war.

7. Wasserabspaltungsversuche

Unter milden Bedingungen wurde aus dem Digacetinin und seinen Derivaten kein Wasser abgespalten. Wurden dagegen schärfere Methoden angewandt, so trat eine ganze Reihe von Anhydroprodukten auf, die sich nur schwer voneinander trennen ließen.

7A) Versuch mit $SOCl_2$ [16]

Eingesetzt wurde das Digacetigeninacetat (Id). Die Temperatur wurde bei dem einen Versuch auf 0°C und bei dem anderen auf 50°C gehalten. Das Reaktionsprodukt zeigte in beiden Fällen im Papierchromatogramm keine Veränderung gegenüber Id. Es wurde daraufhin desacetyliert, wobei ein Gemisch aus Ie und IIa resultierte.

7B) Versuch mit HCl [4]

Anhydrodesacetyl-digacetigenin (VI)

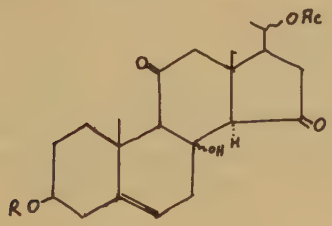
Nachdem die Versuche mit $SOCl_2$ völlig negativ verlaufen waren, erhitzte ich Ie in einem Gemisch von Methanol/conz. HCl 17:3 drei Std. lang unter Rückfluß zum Sieden. Das erhaltene Reaktionsgemisch wurde wie üblich aufgearbeitet und mehrmals an Al_2O_3 chromatographiert. Dabei erhielt ich eine Fraktion, die papierchromatographisch praktisch rein war, aber nicht kristallisiert werden konnte. Die R_f-Werte lagen im Gemisch I bei 0,80, im Gemisch III bei 0,06 und im Gemisch IV bei 0,52. Im Gemisch III lagen die R_f-Werte von weiteren Wasserabspaltungsprodukten aus anderen Fraktionen der Al_2O_3-Chromatographie bei 0,40 (A_1), 0,28 (A_2) und 0,16 (A_3). Sie zeigten Löschung des UV-Lichtes einer Lampe von 256 mμ. Nach 5 min. Bestrahlen mit derselben Lampe verloren die Substanzen A_1 und A_3 diese Eigenschaft und zeigten dann nur mehr eine ganz schwach gelbe Fluoreszenz.

Mit $SbCl_3$ war das oben genannte Anhydroprodukt (VI) nicht anfärbbar. Im UV-Licht zeigte es bei 256 mμ eine starke Löschung und nach dem Anfärben mit KOH [13] eine gelbe Fluoreszenz im UV-Licht. Das UV-Spektrum zeigte ein scharfes Maximum bei 252 mμ ($\lg \varepsilon$ 4,07). Im IR-Spektrum (in $CHCl_3$) lagen Banden bei 1742, 1678 und 1600 cm^{-1}.

8. Die Konstitution des Digacetinins

Auf Grund der gefundenen Ergebnisse ist das Digacetinin ein Digitanolglykosid mit der Bruttoformel $C_{43}H_{64}O_{16}$, dessen desacetyliertes Genin zwei sekundäre acetylierbare OH-Gruppen, eine tertiäre OH-Gruppe, eine Doppelbindung und zwei Ketogruppen enthält. Wie im folgenden ausführlich begründet wird, kommt ihm die Formel Ia zu, die hier vorweggenommen sein soll, um die Diskussion der experimentellen Daten zu erleichtern.

8A)



Ia (Digacetinin)
R=3 D-Digitoxose + 1 Ac

8B) Begründung

a) Die Zuckerkomponente und die Acetylgruppen
Bei der Hydrolyse von Digacetinin (Ia) wurde D-Digitoxose und das Digacetigenin (Ib) kristallin erhalten. Die Mikroacetylbestimmung [5] lieferte für das Digacetinin zwei und für das daraus entstandene Aglykon eine Acetylgruppe, während die ursprünglich mit der Zuckerkomponente verknüpfte zweite sekundäre OH-Gruppe frei war. Eine Acetylgruppe ist also mit der Zuckerkomponente verknüpft. Hierfür spricht auch das Diacetat des Genins.(Wären beide Acetylgruppen im Aglykon, so müßten nach der Acetylierung 3 Estergruppen festgestellt werden.) Ein Enolester ist bei dieser Acetylierung nicht entstanden (im Acetylierungsprodukt Id würden dann die charakteristischen CO-Banden fehlen.)

Fast in allen Digitalisglykosiden ist die Zuckerkomponente an das OH an C-3 gebunden. So war auch für das Digacetinin eine derartige Verknüpfung wahrscheinlich. Der Beweis hierfür wurde durch einen Oxydationsversuch des Digacetigenins (Ib) mit Pyridin/Chromsäure erbracht. Wie schon erwähnt, ist die 3- -OH-Gruppe wesentlich schwerer oxydierbar als die OH-Gruppe an C-20, insbesondere, wenn noch eine Doppelbindung von 5 nach 6 vorhanden ist [10]. Ib wurde bei dieser Oxydation nicht angegriffen. Demnach ist im Digacetigenin die 3 β - OH-Gruppe bei der Glykosidspaltung frei geworden. Damit ist der Beweis erbracht, daß auch im Digacetinin die Zuckerkette an das C-Atom 3 gebunden ist.

Da die quantitative Zuckerbestimmung am Digacetinin wiederholt zu unbefriedigenden Ergebnissen führte, wurde die quantitative Digitoxosebestimmung mit Desacetyldigacetinin (Ic) im Vergleich mit Digitoxin nach der Xanthydrolmethode [17] durchgeführt. Sie ergab für Ic 3 Moleküle Digitoxose.

b) Die Δ^5-3β-OH-Gruppierung

Nach der Oppenauer-Oxydation konnten 2 Produkte isoliert werden, das Δ^4-3-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IIIa) und das Δ^4-3-Dehydroisodesacetyl-digacetigenin (IIIb). Sie zeigten im UV Absorptionsmaxima bei λ_{max} 240 μ bzw. 242 mμ (lg ε 4,21 bzw. 4,13). Diese Werte passen am besten für eine Δ^4-3-Ketogruppierung [18]. Im IR-Spektrum lagen die Banden für IIIa bei 1667 und 1616 bzw. für IIIb bei 1656 und 1618 cm^{-1}, was nach der Literatur die Δ^4-3-Ketostruktur erneut stützt [19]. Das Genin enthält demnach eine Δ^5-3-ol-Gruppierung. Daneben spricht im IR-Spektrum des Desacetyldigacetigenins (Ie) auch die Bande bei 1019cm^{-1} [20] dafür. Im Spektrum des Digacetigeninacetats (Id) liegt eine Bande bei 1031 cm^{-1}. Sie ist in diesem Zusammenhang charakteristisch für Δ^5-3β-Acetoxysteroide.[21] Die Acetatbande bei 1241 cm^{-1} ist nicht aufgespalten. Dies ist wiederum ein Kennzeichen für die äquatoriale Stellung der Acetatgruppe an C-3. [22]

Auch durch den positiven Ausfall der Reaktion nach Witter und Stone [9] wird die Δ^5-3β-OH-Gruppierung noch weiter unterstützt. (Störend bei dieser Reaktion wirkt eine CO-Gruppe an C-7, sowie eine Doppelbindung in Δ^7. Nach den erhaltenen Ergebnissen sind diese beiden Möglichkeiten ausgeschaltet.)

c) Die Carbonylgruppen an C-11 und C-15 und die OH-Gruppen an C-8 und C-20

Im IR-Spektrum von Ie sind im Gebiet der CO-Streckschwingungen deutlich 2 Banden bei 1752 und 1682 cm^{-1} zu erkennen. Das Absoprtionsmaximum bei 1752 ist einem Fünfringketon zuzuschreiben, während für die Bande bei 1682 cm^{-1} ein Sechsringketon oder eine CO-Gruppe an C-20 in Frage kommt.

Die Auswertung der Banden zwischen 1502 und 1350 cm^{-1} [23] spricht nun gegen eine 20-CO-Gruppe. In Ie fand ich Banden bei 1464 (A,m)[+], 1445 (E,s), 1430 (F,w) (Schulter), 1414 (H^o, m), 1399 (I,s), 1376 (K,s) und 1350 (w) cm^{-1}. (Leider konnte ich diese Verbindung nur in KBr und nicht in CS_2 oder $CHCl_3$ aufnehmen lassen, weil sie in diesen Lösungsmitteln schwer löslich war. Geringfügige Abweichungen von der geforderten Bandenlage sind hierdurch leicht denkbar.)

A: nicht gestörte Methylengruppe in C-19 und C-21-Steroiden
C: nicht gestörte Methylengruppen im Ringsystem
E: nicht substituierte Methylengruppe neben einer Doppelbindung (C und E überlagern sich in Ie)
F: Ketosteroide mit benachbarter CH_2-Gruppe an C-4, C-6, C-7, C-11 oder C-12
H: freie CH_2-Gruppe neben CO im Fünfring
I: anguläre CH_3-Gruppen
K: Seitenkettenmethyl
O: (bei Ie nicht vorhanden) C-21-Methyl neben CO an C-20

+) Die großen Buchstaben geben den Bandentyp nach Jones und Cole an, die kleinen dagegen die Intensität des Maximums an. (s=stark; m=mittelstark; w=schwach)

o) Die H-Bande ist leicht verschoben. Sie soll zwischen 1411 und 1404 cm^{-1} liegen.

Bei dem bei 1350 cm^{-1} liegenden Absorptionsmaximum handelt es sich nicht um die O-Bande. Dafür ist die gefundene Absorption viel zu schwach. Ein Vergleich mit C-20-OH-Verbindungen ergab, daß auch diese im Gebiet der O-Bande eine geringe Absorption zeigen[20].

Die Bande H in Verbindung mit der CO-Bande bei 1752 cm^{-1} spricht eindeutig für ein Fünfringketon an C-15 oder C-16. Da die stets stark ausgeprägte O-Bande fehlt, liegt die zweite CO-Gruppe offensichtlich nicht an C-20. Sie muß sich also in einem Sechsring befinden. Auf Grund der Eigenschaften des durch Oppenauer-Oxydation erhaltenen Δ^4-3-Ketons bleiben nur mehr die Stellungen 11 und 12 für diese Ketogruppe übrig.

Ie gibt ebenso wie sein Umlagerungsprodukt IIa ein Monoxim, in dem das Fünfringketon oximiert ist. Dieses spricht ebenfalls gegen eine CO-Gruppe an C-20. Carbonylgruppen an C-12[24], C-15[25], C-16[26] und C-20[27] geben unter den angewandten Bedingungen Oxime. Bei CO-Gruppen an C-20 und C-15 oder C-16 hätte ich danach ein Dioxim erhalten müssen. Der Versuch, ein C-11-Keton unter den angewandten Bedingungen zu oximieren, gelang dagegen nicht[24].

Betrachten wir jetzt das IR-Spektrum des 20-Dehydrodesacetyldigacetigenin (IV). Es weist neben der Bande für die CO-Streckschwingung des Fünfringketons bei 1743 cm^{-1} ein wesentlich stärkeres Absorptionsmaximum bei 1696 cm^{-1} auf, sowie eine ausgebildete Schulter bei 1718 cm^{-1}. Daneben finden wir eine starke sehr gut ausgeprägte Bande bei 1361 cm^{-1}, die in Ie vermißte O-Bande. Sie ist charakteristisch für die C-21-Methylgruppe neben CO an C-20[23]. Dieses Ergebnis spricht eindeutig dafür, daß hier die OH-Gruppe an C-20 oxydiert worden ist. Ob diese OH-Gruppe sich allerdings in α - oder β-Stellung befindet, ist schwer zu sagen. Die Drehwertdifferenzen der 20α - zu den 20β-OH-Verbindungen sind zu gering[28]. Auch möchte ich hier nicht auf Grund der Lage der CO-Banden eine Aussage über eventuelle Wasserstoffbrücken treffen. Meine IR-Spektren sind leider fast alle in KBr aufgenommen und so kann

man niemals feststellen, ob es sich um intra- oder intermolekulare Brücken handelt.

Nachdem in Verbindung IV die 20-Ketogruppe gesichert worden war, konnte auch das Fünfringketon dem C-Atom 15 zugeteilt werden. Für diese CO-Gruppe standen bekanntlich die beiden Stellungen 15 und 16 zur Verfügung. Wäre die CO-Gruppe an C-16, so müßte das entsprechende Diketon (-16,20) in alkalischer Lösung außerordentlich leicht enolisieren und sich durch ein entsprechendes UV-Maximum bemerkbar machen[26]. Dieses ist bei dem von mir erhaltenen C-20-Keton IV nicht der Fall. Im Digacetinin und seinem Genin liegt also die Fünfringketogruppe wie auch beim Digipronin an C-15. Um dies allerdings endgültig zu beweisen, mußte ich noch zeigen, daß die tertiäre OH-Gruppe (wie das ja gerade beim Digipronin der Fall ist) nicht etwa an C-17 angreift und somit eine Enolisierung verhindert. Benachbarte OH-Gruppen werden durch Bleitetraacetat angegriffen[19]. Somit müßte auch ein Diol (-17,20) Bleitetraacetat verbrauchen. Eine quantitative Bestimmung bei Ie ergab keinen Verbrauch an diesem Oxydationsmittel. Ie enthält also keine α-Glykolgruppierung und somit auch kein Hydroxyl an C-17.

Als nächstes muß nun noch die Lage des Sechsringketons an C-11 und der tertiären OH-Gruppe an C-8 bewiesen werden. Das Ergebnis der Oximierung von Ie(Monoxim) deutet ja schon auf ein C-11-Keton hin. Eindeutig festlegen konnte ich diese CO-Gruppe aber erst, nachdem mir mit HCl die Abspaltung der tertiären OH-Gruppe und die Isolierung eines Reaktionsproduktes gelungen war.

Das UV-Spektrum des erhaltenen Anhydroproduktes zeigte sowohl in der Lage des Absorptionsmaximums (λ_{max}^{M} 252 mμ) als auch in seiner Extinktionshöhe (lg ε 4,07) ausgezeichnete Übereinstimmung mit dem von C. Djerassi und Mitarb.[29] dargestellten Δ^{8}-22a,5α-Spirosten-3,11-dion (λ_{max}^{A} 253 mμ, lg ε 3,97). Im IR-Spektrum des von mir erhaltenen Anhydroproduktes lag die Bande für das α,β-ungesättigte Keton bei 1678 cm^{-1} und bei dem oben genannten Spirostenon bei 1667 cm^{-1}. Das Wasserabspaltungsprodukt von Ie enthält

demnach eine $\Delta^{8(9)}$-11-CO-Gruppierung. In Ie könnte nach diesem Ergebnis die tertiäre OH-Gruppe an C-8 oder C-9 liegen. Da jedoch bei dem Oxydationsversuch mit Bleitetraacetat kein Oxydationsmittel verbraucht wurde, ist die 9-Stellung ausgeschaltet, und die OH-Gruppe kann eindeutig dem C-Atom 8 zugeteilt werden.

d) Die C/D-Ringverknüpfung

In neuerer Zeit sind bei Steroiden mit CO-Gruppen an C-15 häufig Umlagerungen an C-14 beobachtet worden[4),30),31),32)]. Die Drehwerte der entstehenden β-Verbindungen sind immer negativer als die der entsprechenden α-Substanzen. T. Reichstein und Mitarb.[32)] fanden für den 3 β-Acetoxy-15keto-14 α-äthiansäuremethylester den Drehwert $(\alpha)_D$+67° und für die entsprechende 14 β-Verbindung $(\alpha)_D$-12,8°. H. Linde und K. Meyer[31)] beobachteten für die gleiche Substanz einen Drehwert von $(\alpha)_D$+67 bzw.-21°. Die Drehwertdifferenz beträgt hier also ungefähr -84° und zwischen dem Desacetyldigacetigenin (Ie) und der entsprechenden Isoverbindung (IIa) ist sie -102°. Die Differenz der Molekularrotation $(M)_D$ ist für die Vergleichssubstanzen 328° und für meine Verbindungen 368°. Diese Übereinstimmung ist befriedigend. Ring C und D sind im Digacetinin also trans verknüpft.

Digacetigenin ist demnach das Δ^5-3 β,8 ξ-Dihydroxy-20 ξ-acetoxy-pregnendion-11,15 und das Isodesacetyl-digacetigenin das Δ^5-3 β,8 ξ,20 ξ-Trihydroxy-14 β-pregnendion-11,15.

Substanz	Bez.	Smp. °C	$[\alpha]_D$	Bruttoformel	U.V.-Spektr. λ_{max} in mμ (lg ε)	J.R.Spektr. λ_{max} in cm^{-1}	Anfärbung mit $SbCl_3$ (im UV-Licht)	R_f-Wert im Gemisch I
Digacetinin	I a	166-173	$+26\pm2$ (M)	$C_{43}H_{64}O_{16}$ (836,7)	275 (2,15)	1752,1709,1370, 1225	grau (gb)	0,62-0,64
Digacetigenin	I b	164-170	$+57\pm2$ (M)	$C_{23}H_{32}O_6$ (404,4)	285 (1,68)	1748,1703,1372, 1250	gb (int.gb.)	0,66-0,68
Desacetyl-digacetinin	I c	224-232	$+29\pm2$ (M)	$C_{39}H_{60}O_{14}$ (752,6)	280 (2,06)	1749,1706	grau (gb)	0,14-0,16
Digacetigenin-acetat	I d	166-171	$+46\pm2$ (M)	$C_{25}H_{34}O_7$ (446,5)	287 (1,68)	1758,1740,1703 1380,1240	gb (int.gb)	Front
Desacetyl-digacetigenin	I e	257-265	$+61\pm2$ (Py)	$C_{21}H_{30}O_5$ (362,4)	288 (1,67)	1752, 1682	gb (int.gb)	0,39
Digacetigenin-diacetat	I f	218-223	$+20\pm5$ (M)	$C_{27}H_{36}O_8$ (488,6)	283 (2,17)	1740,1719,Schult-rb.1751,1367, 1235	gb (int.gb)	Front
Desacetyl-digacetigenin-monoxim	I g	291-295	-	$C_{21}H_{31}O_5N$ (377,5)	--	1722	gb (int.gb)	0,19
Isodesacetyl-digacetigenin	II a	245-251	-41 ± 3 (M)	$C_{21}H_{30}O_5$ (362,5)	280 (1,87)	1728,1708 in Cf:1742,1706	gb (int.gb)	0,23
Isodigacetigenin-acetat	II b	235-240	-75 ± 3 (M)	$C_{25}H_{34}O_7$ (446,5)	--	1750,1730,1706, 1381, 1243	gb (int.gb)	Front
Isodesacetyl-digacetinin	II c	166-171 279-283	-2 ± 2 (M)	$C_{39}H_{60}O_{14}$ (752,6)	275 (2,29)	1748,1702	grau (gb)	0,18
Isodesacetyl-digacetigenin-monoxim	II d	231-236	--	$C_{21}H_{31}O_5N$ (377,5)	--	1733	gb (int.gb)	0,12
Δ^4-3-Dehydro-desacetyl-digacetigenin (O x 1)	III a	206-211	$+154\pm5$ (M)	$C_{21}H_{28}O_5$ (360,4)	240 (4,21)	1748, 1692,1667, 1616	- (-) o)	0,50
Δ^4-3-Dehydroiso-desacetyl-digacetigenin (O x 2)	III b	210-220	$+1\pm5$ (M)	---	242 (4,13)	1744,1704,1656, 1618	- (-) o)	0,31
20- Dehydrodes-acetyldigacetigenin (P_1)	IV	205-213	$+75\pm3$ (M)	$C_{21}H_{28}O_5$ (360,4)	291 (2,00) 289 (2,15) (in KOH)	1748,1702,1688, 1364;in Cf:1743, 1696,1403,1361	gb (int.gb)	0,62
P_3	-	259-264	$+143\pm5$ (Cf)	$C_{21}H_{26}O_5$ +) (358,4)	281	1751 1710, 1690,1402,1364	- (schw.bl)	0,78
Dihydro-digacetigeninacetat	V	174-176	$+30\pm2$ (M)	$C_{25}H_{36}O_7$ (448,5)	280 (1,69)	1751,1737,1700, 1238	gb (int.gb)	Front
Anhydrodesacetyldigacetigenin	VI	--	-32 ± 5 (M)	--	252 (4,07)	in Cf: 1742, 1678, 1600	(=) o)	0,80

+) Diese Bruttoformel ist nicht gesichert

o) Löschung des UV-Lichtes der Wellenlänge 256 mμ ohne Anfärbung.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Allgemeines

Die angegebenen Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroskop-Heiztisch nach Weygand bestimmt.

Die UV-Spektren wurden mit einem Beckmann-Spektrophotometer (Modell DU) gemessen.

Die IR-Spektren wurden von Herrn Rose in der hiesigen organischen Abteilung mit einem Perkin-Elmer-Spektrometer (Modell 21) - wenn nicht anders vermerkt - in KBr aufgenommen.

Zur Messung der optischen Drehung wurde ein Polarimeter 0,01 von Zeiss-Winkel benutzt.

Die C-H-Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. Schoeller, Kronach, durchgeführt.

Die Mikroacetylbestimmungen wurden von Herrn Dr.Grimmer im hiesigen Institut gemacht. Zur Adsorptionschromatographie wurde Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe I, neutral, alkalifrei der Firma Woelm, Eschwege, benutzt. Es wurden ausschließlich die durch Sieben erhaltenen Korngrößen von 0,12 µ (MZ = 3600 pro qcm) und 0,10 - 0,12 µ (MZ = 4900 pro qcm) verwendet. Die Substanzen wurden entweder in Chloroformlösung auf die mit 20-fachem Überschuß Al_2O_3 gefüllte Säule gebracht, oder in wenig Methanol gelöst und zusammen mit der dreifachen Menge Aluminiumoxyd i. V. zur Trockne eingedampft und dann auf eine mit Aluminiumoxyd gefüllte Säule gebracht.

Die bei der Papierchromatographie angewandten Gemische I - IV waren:
Gemisch I = Xylol/Butanon 1 : 1 gesättigt mit Formamid
Gemisch II= Benzol/Butanon 1 : 1 gesättigt mit Formamid
Gemisch III= Cyclohexan gesättigt mit Formamid
Gemisch IV= Benzol/Cyclohexan 1 : 1 gesättigt mit Formamid
Das Papier wurde mit Formamid nach F. Kaiser[33] imprägniert.
Zum Anfärben der Papierchromatogramme dienten folgende Lösungen:

$SbCl_3$ (10 %ig in Cf)
NaOH - Lsg. (10 g NaOH in 60 ml M + 40 ml W)

Zur Papierchromatographie wurde das Papier 2043 a der Firma Schleicher & Schüll verwandt.

2. Chromatographie der Ausgangsdroge

In zwei Chromatographien wurden 70 bzw. 125 g Verodigen aufgearbeitet. Die bei dieser Trennung anfallenden Produkte waren in der gleichen Reihenfolge dieselben, die ich schon in meiner Diplomarbeit beschrieben habe[2].

3. Isodesacetyl-digacetinin (IIc)

508 mg stark verunreinigtes Ia wurden gelöst in 45 ml 0,04 n methanolischer KOH und unter Stickstoff 42 Stunden lang sich selbst überlassen, dann wurde die jetzt stark gelb gefärbte Lösung mit 10 ml Wasser versetzt und nach weiteren 30 Min. mit 50 ml Cf. Im Scheidetrichter wurden dann 100 ml Na_2SO_4-haltiges Wasser zugesetzt. Die Cf-Phase wurde abgelassen, und die verbleibende wässrige Phase noch 5mal mit je 40 ml Cf ausgezogen. Die vereinigten Cf-Auszüge wurden noch einmal mit 1 n Sodalösung gewaschen und weiterhin wie üblich aufgearbeitet. Es wurden schließlich 402 mg schaumartiger, gelber Eindapfrückstand erhalten. Das Papierchromatogramm zeigte im Gemisch I nach dem Einsprühen mit $SbCl_3$ drei dunkle Flecken, die im UV-Licht gelb aufleuchteten. Ihre R_f-Werte waren: 0,62 (A); 0,23 (B); 0,11 (C). Bei dem Fleck A handelt es sich um noch nicht umgesetztes Ia und bei B um dessen Desacetylierungsprodukt (Ic). C ist das gewünschte Isodesacetyl-digacetinin (IIc). (Die Abweichung gegenüber früher angegebenen R_f-Werten beruht auf der Verwendung eines anderen Papiers). Daneben waren nur noch geringe Mengen der ursprünglich vorhandenen Cardenolide zu beobachten.

231 mg des Eindampfrückstandes wurden an 6 g Al_2O_3 (MZ 4900) chromatographiert.

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	10	Cf[A]	gb Öl	verworfen
2	15	Cf[B]	fl Schaum	Ia; Ic; IIc
3	41	Cf[B] +1%M	" "	Ic; IIc; (Ia)
4	60	" "	" "	IIc; Ic
5	40	" "	" "	IIc;(Ic)
6	24	" "	" "	IIc;(Ic)
7	40	" "	" "	IIc; (sehr wenig Ic)

Aus Fr. 7 konnten durch Umkristallisieren aus An/Chx und dann aus An/W 20 mg vollkommen reines IIc in kleinen, gut ausgeprägten warzenförmigen Kristallen erhalten werden. Die Mutterlauge wurde mit Fr. 5 und 6 vereinigt und auf die gleiche Art kristallisiert. Das auf diese Art gewonnene IIc zeigte in seinem Verhalten keinen Unterschied gegenüber einem aus reinem Ia erhaltenem Produkt. Die Fr. 2 - 4 wurden in einem späteren Versuch hydrolisiert, um IIa zu gewinnen.

Smp.: 166 - 171; 279 - 283°C.

Löslichkeiten: M ++; An ++; W -; Chx -

$SbCl_3$ (Papier) dunkel (gb)[x]

Kedde (") sehr schwach rt.

$[\alpha]_D^{23}$: $-2^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,0; M)

$C_{39}H_{60}O_{14}$ (752,6)

$C_{39}H_{60}O_{14} + 1H_2O$ (770,9) ber.: C 60,75 H 8,11

gef.: C 60,70 H 8,04

60,63 8,35

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 275 mμ (lg ε 2,29)

IR-Spektrum: Banden bei 1748 und 1702 cm^{-1}

R_f-Werte: Gemisch I: 0,18; Gemisch II: 0,50

A) mit Cf[A] bezeichnetes Cf ist gewaschen, getrocknet und destilliert.

B) mit Cf[B] bezeichnetes Cf hat den Reinheitsgrad DAB 6.

x) Farbe nach dem Anfärben bei Tageslicht und im UV-Licht in ().

4. Isodesacetyl-digacetigenin (IIa)

IIa aus Ie: 20 mg Ie wurden in 0,04 n methanolischer KOH gelöst und 18 Stunden lang bei Zimmertemperatur behandelt. Dann wurde weiter wie unter 3 beschrieben, aufgearbeitet. Dabei wurden 11 mg Eindampfrückstand erhalten, die im Papierchromatogramm des Gemisch I neben Ie 70-80% IIa enthielten.

IIa aus Ib: Hier gelang die gewünschte Umlagerung unter gleichzeitiger Abspaltung einer Acetylgruppe.

49 mg Ib wurden in 10 ml 0,04 n methanolischer KOH 16 Std. lang bei Z.T. sich selbst überlassen und anschließend wie unter III_2 beschrieben, aufgearbeitet. So wurden 40 mg Eindampfrückstand erhalten. Das Pchr. zeigte im Gem. I neben sehr wenig unverändert gebliebenem Ib zu etwa gleichen Teilen Ie und das gewünschte IIa.

Das erhaltene Rohprodukt wurde mit dem aus Ie erhaltenen Produkt vereinigt, an 100 mg Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen und an einem g Al_2O_3 (MZ 6400) chromatographiert.

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	19	3 ml $Cf^{B)}$	gb-fl Öl	verworfen
2	9	10 ml $Cf^{B)}$ +0,5% M	fl Schaum	IIa; (Ie)
3	12	25 " " " "	fl Schaum	IIa; (Ie)
4	10	25 " " " "	fl Schaum	IIa; (sehr wenig Ie)

Die Fr. 2 - 4 wurden zusammengefaßt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An/Chx wurden 20 mg kompakte Kristalle erhalten. Sie hatten einen Smp. von 242 - 249°C und waren identisch mit dem aus IIc durch Hydrolyse erhaltenem Produkt.

IIa aus IIc: 247 mg IIc wurden in 20 ml M/W 1:1 und 0,2 ml konz. HCl gelöst und 15 Min. gekocht. Dann wurden 10 ml Wasser zugesetzt, das Methanol abdestilliert und noch 10 Min. nachhydrolisiert. Die übliche Aufarbeitung ergab dann 108 mg Rohprodukt. Sie wurden an 3 g Al_2O_3 (MZ 4900) chromatographiert.

Fraktionen zu 10 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	22	$Cf^{B)}$	gb Öl	verworfen
2	19	"	gb-fl Öl	Ie
3	21	"	fl Schaum	Ie; IIa
4	10	"	" "	IIa; (sehr wenig Ie)
5	10	$Cf^{B)}$ + 1%M	" "	" " " "
6	11	" " "	" "	" " " "
7	7	" " "	" "	" " " "
8	5	" " "	" "	" " " "

Die Fr. 4 - 8 wurden zusammengefaßt und mehrmals aus An/Chx kristallisiert.

Smp.: 245 - 251°C

Löslichkeit: M +; An +; Chx -; W -

$SbCl_3$ (Papier) schw. or.-gb. (int.gb.)

$[\alpha]_D^{24}$: - 41° ± 3° (c = 1,0; M)

$C_{21}H_{30}O_5$ (362,5) ber.: C 69,58 H 8,34
gef.: C 69,33 H 8,50

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 280 mμ (lg ε 1,87)

IR-Spektrum: Banden bei 1708,1728 cm^{-1} (in KBr)
1706,1742 cm^{-1} (in Cf)

R_f-Werte: Gem. I 0,23; Gem. II 0,51

5. Iso-digacetigeninacetat (IIb) aus IIa

29 mg IIa wurden in 6 ml Py und 4 ml Ac_2O gelöst und zwei Tage bei Z.T. sich selbst überlassen. Die übliche Aufarbeitung führte zu 35 mg Rohprodukt, das papierchromatographisch rein war und noch mehrmals aus Bz/Chx und Ä/Chx umkristallisiert wurde.

Smp.: 235 - 240°C

Löslichkeit: An +++; Cf ++; Ä ++; M++;
Bz ++; Chx -; W -; Pä -

$SbCl_3$ (Papier) schw. or.-gb. (int.gb.)
(Kieselgel G)[34] (schw.gb.)

$[\alpha]_D^{21}$: - 75° ± 3° (c = 0,32; M)

$C_{25}H_{34}O_7$ (446,5) ber.: C 67,24 H 7,68
gef.: C 66,67 H 7,84
Mikroacetylbestimmung: 2 Acetylgruppen
IR-Spektrum: Banden bei 1750, 1730, 1706
1381, 1243 cm^{-1}
Dünnschichtchromatogramm: R_f-Wert im
Gemisch Isopropyläther/Essigester (6 : 1)
0,40

6. Isodesacetyl-digacetigeninmonoxim (IId) aus IIa

20 mg IIa wurden in 13 ml M gelöst und anschließend zugegeben zu einer Lösung von 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 140 mg Natriumacetat in 1,5 ml Wasser und 10 ml Methanol. Die Lösung wurde 1 Std. gekocht. Dann wurden etwa 10 ml Wasser zugesetzt und das Methanol abdestilliert, wobei ein Teil des Oxims in schönen Nadeln auskristallisierte. Es wurde noch mehrmals auf die gleiche Weise aus Methanol/Wasser umgelöst. Ich erhielt so 9 mg des Oxims.

Smp.: 231 - 236°C
Löslichkeit: M +; W -
$SbCl_3$ (Papier) or.-gb. (int.gb.)
$C_{21}H_{31}O_5N$ (377,5) ber.: N 3,71
gef.: N 3,72
IR-Spektrum: Bande bei 1733 cm^{-1}
R_f-Werte: Gem. I 0,12; Gem. II 0,40

7. Desacetyl-digacetigeninmonoxim (Ig) aus Ie

21 mg Ie wurden wie unter III_6 beschrieben, oximiert. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus M/W erhielt ich 10 mg reine Substanz.

Smp.: 291 - 295°C
Löslichkeit: M +; W -
$SbCl_3$ (Papier) or.-gb. (int.gb.)
$C_{21}H_{31}O_5N$ (377,5) ber.: N 3,71
gef.: N 3,77
IR-Spektrum: Bande bei 1722 cm^{-1}
R_f-Werte: Gem. I 0,19

8. Digacetigenindiacetat (If) aus Ie

60 mg Ie wurden in 6 ml Ac_2O gelöst und mit 20 mg frisch geschmolzenem $KHSO_4$ 20 Min. lang auf 100° erhitzt. Sodann wurde von $KHSO_4$ abfiltriert, mit etwas Cf nachgewaschen und i.V. bei 50°C Badtemperatur zur Trockne gedampft, wieder aufgenommen in Cf, einmal schnell mit sehr verdünnter Sodalösung und dann dreimal mit Na_2SO_4-haltigem Wasser gewaschen, getrocknet, filtriert und schließlich i.V. eingedampft. Die erhaltenen 62 mg Rohprodukt wurden an 2 g Al_2O_3 (MZ 3600) chromatographiert.

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemrkung
1	8	5 ml Bz	gb Öl	verworfen
2	40	10 ml Bz/Ä 1:1	gb-fl Schaum	fast reines If
3	12	15 " Ä	" "	"

Fr. 2 wurde mehrmals aus Bz/Chx und M/W umkristallisiert.

Smp.: 218 - 223°C

Löslichkeit: M ++; An +++; Chx -

$SbCl_3$ (Papier) or.-gb. (int.gb.)
(Kieselgel G) (schw.gb.)

$[\alpha]_D^{21}$: + 20° ± 5° (c = 0,45; M)

$C_{27}H_{36}O_8$ (488,6) ber.: C 66,37 H 7,43
gef.: C 65,74 H 7,64

Mikroacetylbestimmung: 3 Acetylgruppen

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 283 mμ (lg ε 2,17)

IR-Spektrum: Banden bei 1740, 1719, 1367 und 1235 cm^{-1}

R_f-Werte: Gem.I Front;
Dünnschichtchromatogramm in Ä/Ege 6:1 0,72

9. Dihydrodigacetigeninacetat (V) aus Id

70 mg Id wurden in 70 ml Methanol gelöst und mit 50 mg 10% Pd auf Kohle 2 Std. lang hydriert. (Leider konnte in Ermangelung einer Mikroapparatur die genaue Wasserstoffaufnahme nicht festgestellt werden.) Anschließend wurde vom Katalysator abfiltriert und die Lösung i.V. zur Trockne gedampft. Der so erhaltene farblose Schaum konnte aus Bz/Chx direkt kristallisiert werden.

Smp.: 174 - 176°C; Mischsmp.: Mit Id: 164 - 167°C
Löslichkeit: M +; An +++; Cf ++; Bz +; W -; Chx -; Pä -
$SbCl_3$ (Papier) or.-gb. (int. gb.)
(Kieselgel G) (schw.gb.)
Tetranitromethan (in Cf.-Lg.) -

$[\alpha]_D^{20}$: + 30° ± 2° (c = 1,18; M)

$C_{25}H_{36}O_7$ (488,5) ber.: C 66,94 H 8,09
gef.: C 66,95 H 7,83

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 280 mμ (lg ε 1,69)
IR-Spektrum: Banden bei 1751, 1737, 1700 und 1238 cm^{-1}
R_f-Werte: Gem. I 0,95; Dünnschichtchromatogramm in Ä/Ege 6:1 0,72

10. Die Oxydation nach Oppenauer (IIIa und IIIb aus Ie)

100 mg reines Ie wurden in 10 ml trocknem Xylol und 10 ml Cyclohexanon unter Erwärmen gelöst. Zu dieser Lösung wurden bei 180°C Badtemperatur ungefähr 1 g frisch sublimiertes Aluminiumisopropylat zugegeben. Diese Reaktionslösung wurde 10 min. bei 180 - 190°C gehalten. Alsdann wurden bei 120°C (Badt.) 7 ml Wasser zugesetzt und die Lösung noch 5 Min unter Rückfluß gekocht. Dann wurde mit 1,5 ml konz. HCl angesäuert und die wässrige Phase abgetrennt. Sodann wurde die organische Phase zwischen Petroläther und Methanol (nach Wasserzusatz bis zur Phasentrennung) verteilt. Die Petrolätherphase wurde noch zweimal mit frischem Methanol auf die gleiche Art ausgeschüttelt und die vereinigten Methanolauszüge mit Petroläther gewaschen. Nach dem Eindampfen i.V. wurde der Rückstand noch mehrmals mit Aceton zur Trockne gebracht. So wurde ein gelbes, stark nach Cyclohexanon riechendes Öl erhalten. Es wurde in Cf gelöst und einmal mit 0,5 n Na_2CO_3-Lösung ausgezogen. Die Sodalösung wurde einmal mit wenig Cf gewaschen und die vereinigten Cf-Auszüge wiederum mit Na_2SO_4-haltigem Wasser ausgeschüttelt. Diese Lösung wurde dann weiter wie üblich aufgearbeitet. Es wurde ein gelbes Öl erhalten, das noch immer nach Cyclohexanon roch. Es wurde an 1,2 g Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen und auf eine Säule von 4,5 g Al_2O_3 (MZ 3600) gegeben.

1. Chromatographie

Fraktionsgrößen zu 15 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1		Bz	gb Öl	Cyclohexanon; Kondensationsprodukte
2	33	Bz/Ä 1:1	gb-fl Öl	(Ox_7); (Ox_5); Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
3	14	" " "	" " "	(Ox_7); Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
4	5	Ä	fl Öl	(Ox_7); Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
5	4	Cf[A)]	gb-fl Öl	Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
6	21	Cf[B)]	gb-fl Schaum	Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
7	10	M	" " "	(Ox_1); Ie; (Ox_2); IIa
8	13	"	" " Öl	verworfen

Die Fraktionen 2 und 3 wurden zusammengefaßt, aus An/Chx kristallisiert, um letzte Reste Cyclohexanon zu entfernen und die Kristalle mit den Fr. 4 - 6 vereinigt (64 mg). Sie wurden an 200 mg Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen und erneut an 2 g Al_2O_3 (MZ 3600) chromatographiert.

2. Chromatographie

Fraktionsgrößen zu 7 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	5	Bz	Öl	verworfen
2	5	Bz/Ä 1:1	"	verworfen
3	8	" " "	gb-fl Schaum	Ox_7; Ox_5; Ox_3; (Ox_1);(Ie)
4	14	Ä	fl Schaum	(Ox_7); Ox_5; Ox_3; Ox_1;Ie;Ox_2
5	6	"	" "	Ox_1; Ie; (Ox_2)
6	5	Cf[A)]	Öl	Ox_1; Ie; (Ox_2)
7	6	"	"	Ox_1; Ie; (Ox_2)
8	27	Cf[B)]	fl Schaum	Ox_1; Ie; Ox_2; (IIa)
9	4	"	" "	Ox_1; Ie; Ox_2; IIa
10	2	M	fl Öl	verworfen

Die Oxydationsprodukte (Ox_1 und Ox_2) verbleiben beim Umkristallisieren aus Dx/Ä/Chx (oder weniger gut auch aus An/Chx) bevorzugt in der Mutterlauge. So wurden zunächst die Fr. 5 und 6 vereinigt und aus An/Chx kristallisiert. Die erhaltenen Kristalle wurden dann nochmals aus Dx/Ä/Chx

kristallisiert. Die Mutterlauge bei der Kristallisation wurde vereinigt und gemeinsam mit der Mutterlauge der Fr. 8 (diese wurde auch aus An/Chx kristallisiert) zur Trockne gedampft. Das so erhaltene Gemisch bestand hauptsächlich aus Ox_1, Ox_2 und ungefähr 15 - 25% Ie. Es wurde mit einer ähnlichen Fraktion eines früheren Ansatzes vereinigt. So wurden 45 mg erhalten. Eine versuchte fraktionierte Kristallisation aus Dx/Ä/Pä; Py/W; M/W; Cf; CH_2Cl_2/Pä brachte ebenso wie eine Chromatographie an Al_2O_3 keine wesentliche Auftrennung. Auch eine Chromatographie auf dem Papier erschien mir im Gemisch I aussichtslos, da die R_f-Werte hier zu eng beieinander liegen. So wurden die 45 mg an ca. 150 mg Kieselgel aufgezogen und an eine Kieselgelsäule (5 g) im Gemisch Ä/Ege 6:1 chromatographiert.

3. Chromatographie

Fraktionsgrößen zu 15 ml

Nr.	mg	Aussehen	Bemerkung
1	-	-	-
2	3	fl Schaum	IIa; (Ox_2)
3	3	" "	Ox_2; IIa
4	3	" "	Ox_2; (IIa)
5	8	" "	Ox_2; (IIa); (Ie)
6	5	" "	Ie; Ox_2; (Ox_1)
7	6	" "	Ie; (Ox_2); Ox_1
8	6	" "	(Ie); (Ox_2); Ox_1
9	5	" "	(Ie); Ox_1
10	4	" "	Ox_1; (sehr wenig Ie)

In diesem System werden die einzelnen Substanzen also in umgekehrter Reihenfolge wie an Al_3O_3 eluiert. Die Auftrennung ist hier etwas besser. Aus Fr. 4 und 5 gelang es mir endlich durch zweimaliges Umkristallisieren aus CH_2Cl_2/Chx papierchromatographisch praktisch reines Ox_2 zu erhalten. Es fiel in warzenförmigen Kristallen aus, war jetzt jedoch wesentlich schwerer zur Kristallisation zu bringen als bei der Anwesenheit von Ie.

Ox_2 = Δ^4-3-Dehydro-isodesacetyl-digacetigenin (IIIb)

Smp.: 210 - 220°C

Löslichkeit: An ++; M +; Py +; Dx +; CH_2Cl_2 +;
Cf +; Pä -; Chx -; W -
$SbCl_3$ (Papier) - -
KOH (Papier) - (gb)
ohne Anfärbung (Papier) Löschung des UV-Lichtes (256 mμ)

$[\alpha]_D^{20}$: + 1° ± 5° (c = 0,39; M)

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 242 mμ (lg ε 4,13)

IR-Spektrum: Banden bei 1744,1704, 1656 und 1618 cm^{-1}

R_f-Wert: Gemisch I 0,31

Ox_2 aus Ox_1

Um nachzuweisen, daß IIIb zu IIIa im gleichen Verhältnis wie IIa zu Ie steht, wurde eine Fraktion von ungefähr 3 mg, die Ox_2 und Ox_1 im ungefähren Verhältnis von 1:2 enthielt, in 0,04 n methanolischer KOH 15 Std. lang bei Z.T. sich selbst überlassen. Anschließend wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Papierchromatogramm zeigte nun Ox_2 und Ox_1 etwa im Mengenverhältnis von 3:1. Ein großer Teil von Ox_1 ist also umgelagert worden.

Ox_1 = Δ^4-3-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IIIa)

Aus den letzten 3 Fraktionen der oben beschriebenen Chromatographie an Kieselgel konnten 8 mg reines IIIa aus An/Chx kristallisiert werden.

Smp.: 206 - 211°C

Löslichkeit: Cf ++; An +++; M +; CH_2Cl_2 +;
Pä +; Dx +; W -; Chx -

$SbCl_3$ (Papier) - -
KOH (Papier) - (gb)
ohne Anfärbung (Papier) Löschung des UV-Lichtes (256 mμ)

$[\alpha]_D^{20}$: + 154° ± 5° (c = 0,46; M)

$C_{21}H_{28}O_5$ (360,4) ber.: C 69,97 H 7,83
gef.: C 69,34 H 7,98

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 240 mμ (lg ε 4,21)
IR-Spektrum: Banden bei 1748, 1692, 1667 und 1616 cm^{-1}
R_f-Wert: Gem. I 0,50

Ox_3

Aus den Fraktionen 3 und 4 der 2. Chromatographie konnten durch mehrmaliges Umkristallisieren ca. 5 mg Kristalle erhalten werden, die neben wenig IIIa noch ca. 10% Ie enthielten und im übrigen aus Ox_3 bestanden. Sie konnten der geringen Menge wegen nicht weiter gereinigt werden.

Smp.: der unreinen Substanz 226 - 236°C
Löslichkeit: M +; An +; Chx -; W-
$SbCl_3$ (Papier) - (schw.bl.)
ohne Anfärbung (Papier) keine Löschung des UV-Lichtes (256 mμ)

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 237 mμ (lg ε 3,19)
IR-Spektrum: Banden bei 1739, 1714 und 1686 cm^{-1}
R_f-Wert: Gem. I 0,62

11. Die Reaktion nach Witter und Stone[9)]

Ca. 50 mg reinstes Ib wurden auf Papier aufgetragen, mit Wasser gesättigtem Phenol eingesprüht und 10 Min. bei 70 - 75°C getrocknet. Alsdann wurde noch eingesprüht mit einer Lösung von Ammoniummolybdat in verd. HCl und etwas Perchlorsäure.

Das Ergebnis war eine tief blaue Anfärbung von Ib, so wie sie für Δ^5-3ß-OH-Gruppierungen charakteristisch ist.

12. Die Oxydation mit Pyridin/Chromsäure

a) Oxydationsversuch mit Ib
27 mg Ib wurden in 1 ml Pyridin gelöst und mit einer Lösung von 25 mg CrO_3 in 1 ml Pyridin versetzt. Nach 15 Std. wurden 5 ml Wasser zugesetzt und die Lösung von dem ausgefallenem Pyridin-Chromsäure-komplex abgesaugt. Der Rückstand wurde mehrmals mit Essigester gewaschen. Dem Filtrat wurden ca. 10 ml Wasser zugesetzt. Das so erhaltene Gemisch wurde mehrmals mit Essigester ausgezogen. Die vereinigten

Essigesterphasen wurden einmal mit etwa 1 n Sodalösung und fünfmal mit Na_2SO_4-haltigem Wasser gewaschen. Die Waschphasen wurden noch einmal mit Essigester ausgeschüttelt und die Waschflüssigkeit vereinigt, noch einmal mit etwas Na_2SO_4-haltigem Wasser gewaschen und zu der Hauptmenge des Essigesterauszuges hinzugegeben. Diese wurde nach dem Trocknen über Na_2SO_4 i.V. zur Trockne gedampft. Der so erhaltene braune Rückstand (21 mg) wurde an 3 g Al_2O_3 (MZ 3600) chromatographiert.

Fraktionsgröße 15 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	10	Cf[A)]	gb-fl Schaum	Ib
2	6	Cf[B)]	fl Schaum	Ib
3	3	M	br Öl	verworfen

Die aus Fr. 1 und 2 erhaltene Substanz war wie das Papierchromatogramm zeigte, unverändertes Ib. Ib ist also bei dieser Oxydation nicht angegriffen worden.

b) Oxydationsversuch mit Ie

303 mg Ie wurden in 12 ml Pyridin gelöst und zugesetzt zu einer Suspension von 600 mg CrO_3 in 24 ml Pyridin. Die Lösung wurde dann 15 Std. lang sich selbst überlassen und grundsätzlich in der gleichen Weise, wie unter 11a angegeben, aufgearbeitet. Es wurden nur 230 mg Eindampfrückstand erhalten. Versuche, die Ausbeute durch nochmaliges Waschen des abfiltrierten Pyridin-Chromsäurekomplexes mit Essigester zu erhöhen, brachten keinen nennenswerten Erfolg. Der Eindampfrückstand wurde an 400 mg Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen. Chromatographiert wurde an 6 g Al_2O_3 (MZ 6400).

Fraktion zu 15 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	9	Bz	fl Öl	P_4; (u.a.)
2	9	Bz +5%Ä	fl Schaum	P_3; P_4; (u.a.)
3	10	" "	" "	P_3; P_4; (u.a.)
4	17	" "	" "	(P_3); (P_4); P_1
5	12	" "	" "	(P_4); P_1
6	10	" "	" "	(P_4); P_1

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
7	11	Bz +5%Ä	fl Schaum	(P_4); P_1
8	13	" "	" "	(P_4); P_1; (P_5); (u.a.)
9	11	" "	" "	" " " "
10	7	Bz +10%Ä	" "	" " " "
11	22	Bz + 60%Ä	" "	" " " "
12	4	Ä	" "	" " " "
13	51	Cf[B)]	" "	(P_1); P_2
14	31	M	" "	P_1; P_2; (u.a.)

Die Bezeichnung der Substanzen P_1 - P_5 ist nach ihren R_f-Werten im Gemisch I vorgenommen (die Zahlen geben die R_f-Werte an).

Bez. d. Subst.	nach dem Einsprühen mit $SbCl_3$ im UV-Licht
P_4	0,79 (gb)
P_3	0,78 (bl)
P_1	0,62 (gb)
P_2	0,41 (gb)
P_5	0,23 (gb)

c) P_3

Aus Fr. 2 und 3 der unter 11b angegebenen Chromatographie wurden zunächst aus Aceton und dann aus Cf/Ä/Chx sehr gut ausgeprägte, schuppenförmige Kristalle erhalten.

Smp.: 259 - 264°C

Löslichkeit: Cf +; An wenig; Chx -; Pä -
$SbCl_3$ (Papier) - (schw.bl.)
Chlorsulfonsäure (KieselgelG) - (schw.gb.)
ohne Anfärb. (Papier) keine Löschung des UV-Lichtes bei 256 mμ
Kedde - -
KOH - (gb)

$[\alpha]_D^{23}$: + 143° ± 5° (c = 0,47; Cf)

$C_{21}H_{26}O_5$ (358,4) ber.: C 70,37 H 7,31

$C_{21}H_{28}O_5$ (360,4) ber.: C 69,97 H 7,83

$C_{21}H_{30}O_5$ (362,4) ber.: C 69,58 H 8,34

$C_{21}H_{26}O_5 + C_4H_{10}O$ (Ä) = $C_{25}H_{36}O_6$ ber.: C 69,42 H 8,39
gef.: C 69,43 H 8,04
C 69,35 H 8,34

UV-Spektrum: λ^{M}_{max} 281 mμ

IR-Spektrum: Banden bei 1751, 1710, 1690, 1402 und 1364 cm^{-1}
(1710 cm^{-1} in P_3 als 1702 cm^{-1} in P_1)

R_f-Wert: Gem. I 0,78

Die Fr. 4 - 12 der unter 11b angegebenen Chromatographie wurden zusammen mit der Mutterlauge der Fr. 2 und 3 vereinigt und zur Trockne gebracht. Die dabei erhaltenen 110 mg wurden an ca. 250 mg Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen und an 3 g Al_3O_3 (MZ 6400) chromatographiert.

Fraktionsgröße zu 15 ml

Nr.	mg	Elm.	Aussehen	Bemerkung
1	33	Bz	gb-fl Schaum	P_4; P_1
2	5	Bz + 1%Ä	fl Schaum	(P_4); P_1
3	22	Bz + 5%Ä	" "	(P_4); P_1
4	20	Ä	" "	P_1; (P_2)
5	14	Cf[B)]	" "	P_1; P_2
6	3	M	gb-fl Öl	P_1; P_2; (u.a.)

Aus den Fr. 2 und 4 konnten durch mehrmaliges Umlösen aus An/Chx reines P_1 erhalten werden.

d) P_1 = 20-Dehydrodesacetyl-digacetigenin (IV)

Smp.: 205 - 213°C

Löslichkeit: M ++; An ++; Cf ++; Chx -

$SbCl_3$ (Papier) or-gb (int.gb.)

Kedde (Papier) schw.rosa

$[\alpha]_D^{25}$: + 75° ± 3° (c = 0,38; M)

$C_{21}H_{28}O_5$ (360,4) ber.: C 69,97 H 7,83
gef.: C 70,05 H 8,01

UV-Spektrum: λ^{M}_{max} 291 mμ (lg ε 2,00)

IR-Spektrum: Banden bei 1748, 1702, 1688 und 1364 cm^{-1}
in Cf 1743, 1696, 1403 und 1361 cm^{-1}
Schulter bei 1718 cm^{-1}

R_f-Wert: Gem. I 0,62

13. Die Oxydation mit $Pb(OAc)_4$

12,0 mg Ie wurden in 6 ml Eisessig gelöst, mit 1 ml 0,05 n (F = 0,941) Bleitetraacetatlösung versetzt und 15 Std. lang bei Z.T. sich selbst überlassen. Daneben wurden zwei Blindproben hergestellt, von denen die erste sofort nach Zugabe von 2 ml einer 2%igen KJ-Lösung (die noch 50 g NaOAc auf 100 ml Wasser enthielt) mit frisch bereiteter n/100 Thiosulfatlösung titriert wurde.
Verbrauch 4,70 ml.
Die zweite Blindprobe verbrauchte nach 15 Std. 4,73 ml und die Reaktionslösung 4,65 ml n/100 Thiosulfat. Es ist also kein $Pb(OAc)_4$ verbraucht worden.

14. Oxydationsversuch mit CrO_3/Py an Isodesacetyl-digacetigenin (IIa)

Versuchsweise wurden 12 mg IIa wie unter 11b angegeben, oxydiert und aufgearbeitet. Als Eindampfrückstand wurden 7 mg gelber Schaum erhalten. Im Gemisch I waren auf dem Papierchromatogramm neben geringen Mengen Ausgangsprodukt hauptsächlich 2 Flecken mit den R_f-Werten 0,40 und 0,25 zu erkennen. Bei ihnen handelte es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um P_2 und P_5 der unter 11b angegebenen Tabelle.

Diese beiden Produkte wurden offensichtlich auch durch Umlagerung von P_1 (IV) mit 0,04 n methanolischer KOH erhalten.

15. Umlagerungsversuch mit 0,04 n methanolischer KOH an P_1(IV)

15 mg IV wurden in 0,04 n methanolischer KOH gelöst und 15 Std. lang sich selbst überlassen. Dann wurde die Lösung wie unter 3 angegeben, aufgearbeitet. Es wurden 10 mg Eindampfrückstand erhalten. Das Papierchromatogramm im Gemisch I zeigte neben einer kleinen Menge Ausgangsprodukt die auch schon nach der Oxydation von IIa beobachteten Substanzen mit den R_f-Werten 0,39 (P_2) und 0,21 (P_5). Die Verbindungen sind also mit großer Wahrscheinlichkeit Umlagerungsprodukte von IV. Eines von ihnen (vermutlich P_2) verhält sich wohl zu IV wie IIa zu Ie, bzw. IIIb zu IIIa.

16. Wasserabspaltungsversuche

a) mit $SOCl_2$

63 mg Id wurden in 1,5 ml Pyridin gelöst und bei 0°C mit 10%iger Lösung von $SOCl_2$ in Pyridin versetzt. Nach 10 min. wurden 15 ml Eiswasser zugesetzt und dann mehrmals mit Cf ausgeschüttelt. Die Cf-Lösung wurde dann weiter wie üblich aufgearbeitet und chromatographiert. Die rein erhaltenen Fraktionen zeigten papierchromatographisch keinen Unterschied gegenüber dem Ausgangsprodukt. Sie wurden desacetyliert und ergaben Ie. Mit 15 mg Id wurde der gleiche Versuch bei 50°C wiederholt. Das erhaltene Rohprodukt wurde desacetyliert und zeigte dann im Papierchromatogramm wieder Ie neben geringen Mengen IIa. Es war also auch unter diesen Bedingungen keine Wasserabspaltung erfolgt.

b) mit HCl

100 mg Ie wurden in 50 ml Methanol gelöst, mit 8,5 ml konz. HCl versetzt und 3 Std. gekocht. Anschließend wurde die Lösung mit 150 ml Cf versetzt und dreimal mit Na_2SO_4-haltigem Wasser und einmal mit 0,5 n Sodalösung ausgezogen. Das Waschwasser und die Sodalösung wurden noch einmal mit etwas Cf gewaschen, die Cf-Auszüge vereinigt, noch einmal mit wenig Na_2SO_4-haltigem Wasser gewaschen und dann mit dem ersten Cf-Auszug vereinigt. Dieser wurde weiter wie üblich aufgearbeitet und ergab 91 mg Eindampfrückstand. Dieser wurde an 200 mg Al_2O_3 (MZ 3600) aufgezogen und an 2,5 g Al_2O_3 (MZ 3600) chromatographiert.

4. Chromatographie

Nr.	mg	Elm.	Aussehen
1	6	15 ml Bz	gb Öl
2	49	20 ml Bz/Ä 1:1	gb Öl
3	22	20 ml A	gb Öl
4	7	20 ml Cf[B)]	gb Öl
5	2	30 ml M	gb Öl

Fr. 2 (49 mg) wurde erneut an 1,5 g Al_2O_3 (MZ 3600) chromatographiert.

5. Chromatographie

Nr.	mg	Elm.	Aussehen
1	7	5 ml Bz	gb-fl Öl
2	25	10 ml Bz +10%Ä	gb-fl Schaum
3	3	10 ml Bz/Ä 1:1	gb Schaum
4	8	10 ml Ä	gb Öl
5	1	10 ml Cf[B)]	" "
6	3	15 ml M	" "

Gemisch 1 erwies sich als ungeeignet zur Papierchromatographie, weil es das erhaltene Substanzgemisch nicht auftrennte und die R_f-Werte mit 0,80 zu groß waren. Im Gemisch III waren sie dagegen zu kurz. Am geeignetsten erschien mir noch Gemisch IV, in dem die Anhydroprodukte R_f-Werte von 0,40 - 0,60 zeigten. Die 25 mg der zweiten Chromatographie waren fast rein. Sie konnten jedoch nicht zur Kristallisation gebracht werden. Bei ihnen handelt es sich um das gesuchte Anhydroprodukt. In Fraktion I der zweiten Chromatographie wurden weitere Wasserabspaltungsprodukte beobachtet, die im Gemisch III folgende R_f-Werte hatten:

A_1 0,40; A_2 0,28; A_3 0,16.

Sie zeigten alle Löschung des UV-Lichtes einer Lampe von 256 mμ. Nach 5 Min. Bestrahlen mit derselben Lampe verloren die Substanzen A_1 und A_3 diese Eigenschaft und zeigten nur noch ganz schwach gelbe Fluoreszenz. A_1, A_2 und A_3 wurden nicht rein isoliert.

Anhydrodesacetyl-digacetigenin (VI)

Löslichkeit: Bz ++; Cf ++; An ++; M +; Chx -; Pä -; W -

$SbCl_3$ (Papier) - (-)

ohne Anfärbung (Papier) Löschung bei 256 mμ

KOH (Papier) (gb)

$[\alpha]_D^{21}$: $-32^\circ \pm 5^\circ$ (c = 1,33; M)

UV-Spektrum: λ_{max}^{M} 252 mμ (lg ε 4,07)

IR-Spektrum: Banden bei 1742, 1678 und 1600 cm^{-1} (in Cf)

R_f-Werte: Gem. I 0,80; Gem. III 0,06; Gem. IV 0,52

Abkürzungen

Bz	Benzol	Ege	Essigester
Cf	Chloroform	Dx	Dioxan
M	Methanol	Py	Pyridin
A	Alkohol	Chx	Cyclohexan
Ä	Äther	Pä	Petroläther
An	Aceton	Ipä	Isopropyläther
W	Wasser		

gb	gelb	Gem	Gemisch
bl	blau	Fr	Fraktion
fl	farblos	Mz	Maschenzahl pro cm^2
or	orange	Bez	Bezeichnung
schw	schwach	Subst	Substanz
int	intensiv	Z T	Zimmertemperatur
Reakt	Reaktion	Fluoresz	Fluoreszenz
Spektr	Spektrum	Anfärb	Anfärbung

Literaturübersicht

1) C.W.Shoppée, Helv.chim.Acta 27, 426 (1944)
R.Tschesche u. G.Grimmer, Ber.dtsch.chem.Ges. 88, 1569 (1955)
R.Tschesche u. G.Buschauer, Liebigs Ann.Chem. 603, 59 (1957)
D.Satoh, F.Ishii, Y.Oyama, T.Wada u. T.Ohumura, Pharm.Bull. (Japan), 4, 284 (1956)
R.Tschesche, G.Lipp u. G.Grimmer, Liebigs Ann.Chem. 606, 160 (1957)
R.Repie u. C.H.Tamm, Helv.chim.Acta 40, 639 (1957)
R.Tschesche u. G.Lipp, Liebigs Ann.Chem. 615, 210 (1958)

2) R.Tschesche, W.Hammerschmidt u. G.Grimmer, Liebigs Ann. Chem. 614, 136 (1958)
W.Hammerschmidt, Diplomarbeit (Hamburg 1957)

3) A.L.Gil, A.C.Carraminana u. E.P.Yufera, A.Real Soc. espan. Fisica Quim., Ser.B 54 (B), 761 (1958)

4) Privatmitteilung von D.Satoh an R.Tschesche (Nov. 1959)

5) R.F.Goddin, N.F.Leblanc u. C.M.Wright, Analytic.chem. 27, 1251 (1955)

6) C.W.Shoppée u. T.Reichstein, Helv.chim.Acta 23, 975 (1940)

7) R.V.Oppenauer, Rec.trav.chim. 56, 137 (1937)

8) C.Djerassi, Organic Reactions 6, 207 (Wiley, N.Y. 1951)

9) R.F.Witter u. S.Stone, Analytic.chem. 29, 156 (1957)

10) G.Grimmer, Liebigs Ann.Chem. im Druck

11) G.J.Poos, G.E.Arth, R.E.Beyler u. L.H.Sarett, J.Amer. chem.Soc. 75, 422 (1953)

12) J.E.Bush u. D.A.Taylor, Biochem.J. 52, 643 (1952)

13) J.E.Bush, Biochem.J. 50, 370 (1952)

14) R.Tschesche, W.Freytag u. G.Snatzke, Ber.dtsch.chem.Ges. 92, 3053 (1959)

15) C.Djerassi u. R.Ehrlich, J.org.Chem. 19, 1351 (1954)

16) G.Darzens, Compt.rend. 152, 1601 (1911)

17) R.Tschesche, G.Grimmer u. F.Seehofer, Ber.dtsch.chem. Ges. 86, 1235 (1953)

18) L.F.Fieser u. M.Fieser, Steroids S.19 (Reinhold N.Y. 1959)

19) R.N.Jones, P.Humphries, F.Herling u. K.Dobriner, J.Amer. chem.Soc. 72, 86 (1950)

20) G.Roberts, B.S.Jallagher, R.N.Jones, Infrared Absorption Spectra of Steroids (Volume II)

21) R.N.Jones u. F.Herling, J.Amer.chem.Soc. 78, 1152 (1956)

22) R.N.Jones,P.Humphries,F.Herling u. K.Dobriner, J.Amer. chem.Soc. 73, 3215 (1951)

23) R.N.Jones u. A.R.H.Cole, J.Amer.chem.Soc. 74, 5648 (1952)

24) O.Schindler, Helv.chim.Acta 39, 1698 (1956)

25) A.Lardon,H.P.Sigg u. T.Reichstein, Helv.chim.Acta 42, 1457 (1959)

26) S.Bernstein,M.Heller u. S.M.Stolar, J.Amer.chem.Soc. 77, 5327 (1955)

27) A.Butenandt u. U.Westphal, Chem.Ber. 69, 443 (1936)

28) D.H.R.Barton u. W.Klyne, Chemistry and Industry 755 (1948)

29) A.J.Lemin u. C.Djerassi, J.Amer.chem.Soc. 76, 5672 (1954)

30) C.Djerassi,T.T.Großnickle u. L.B.High, J.Amer.chem.Soc. 78, 3172 (1956)

31) H.Linde u. K.Meyer, Helv.chim.Acta 42, 807 (1959)

32) A.Lardon,H.P.Sigg u. T.Reichstein, Helv.chim.Acta 42, 1457 (1959)

33) F.Kaiser, Ber.dtsch.chem.Ges. 88, 558 (1955)

34) E.Stahl, Chemiker Ztg. 82, 323 (1958)

Lebenslauf

Am 15. Februar 1930 wurde ich, Winrich Bernhard Hammerschmidt, in Königsberg (i.Pr.) als Sohn des Diplom-Landwirtes Dr. Bernhard Hammerschmidt und seiner Ehefrau Katharina, geb. Müller, geboren.

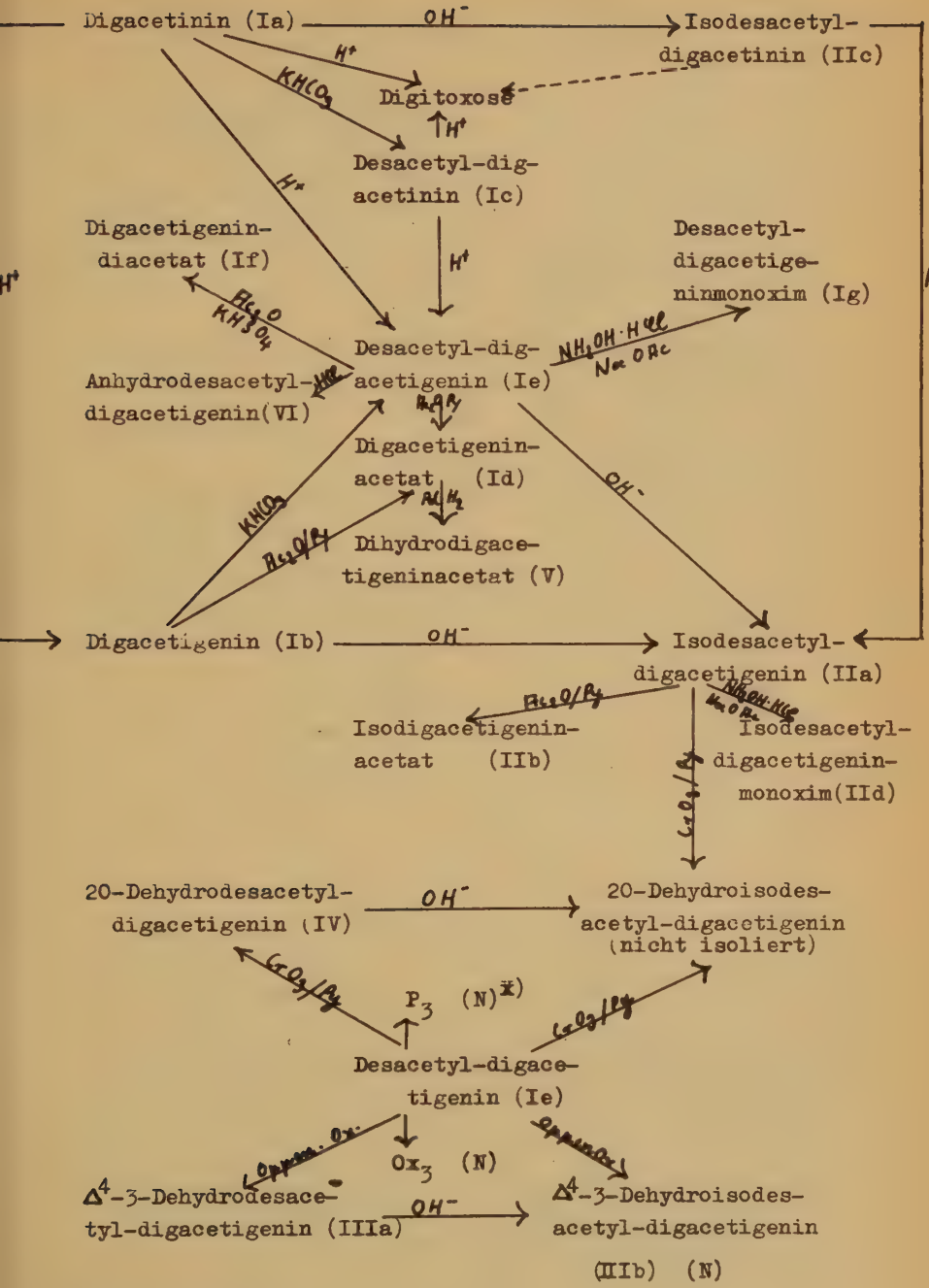
Die ersten 12 Jahre meines Lebens verbrachte ich auf dem Hofe meiner Eltern in Kröligkeim, einem kleinen Dorf in Ostpreußen. Dort besuchte ich von 1936 bis 1940 die Grundschule. Anschließend wurde ich dann zwei Jahre zu Hause unterrichtet. Von 1942 bis 1944 war ich auf der Hermann-Lietz-Schule Ettersburg in Thüringen. Durch die Flucht im Jahre 1945 wurde meine Familie nach Schönkamp, einem Gut in der Nähe von Lübeck verschlagen. 1946 begann ich in Bad Schwartau wieder zur Schule zu gehen. Hier habe ich dann im Februar 1952 mein Abitur gemacht.

Vom Sommersemester 1952 bis zum Wintersemester 1956/57 studierte ich an der Universität Kiel Chemie. Im Sommersemester 1955 machte ich dort meine Diplom-Chemiker-Vorprüfung. Seit dem Sommersemester 1957 bin ich an der Universität Hamburg immatrikuliert. Hier habe ich auch im Sommer-Semester 1958 meine Hauptprüfung abgelegt, an die sich die hier vorliegende experimentelle Arbeit über das Digitanol-Glykosid Digacetinin anschloß.

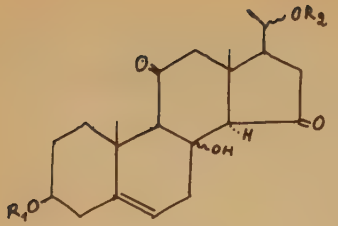
Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten Grewe, Hahn, Heyns, Hertel, Holleck, Juza, Klimfeller, Kroebel, Leonhardt, Lochte-Holtgreven, Martin, Mondon, Otremba, Remy, Schimank, Thiele, Tschesche, Wicke, Zerbe.

Ich versichere, daß ich die vorstehende Arbeit selbständig durchgeführt und keine anderen als die bezeichneten Hilfsmittel verwendet habe. Die benutzte Literatur ist im Literaturverzeichnis zusammengestellt; auf die Arbeiten ist im Text hingewiesen.

Hamburg, den 14. Nov. 1960



x) N = Nebenprodukt



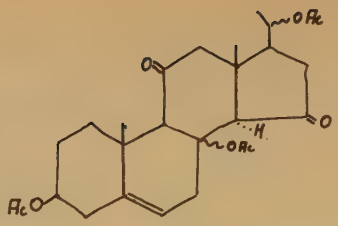
Ia: Digacetinin
R_1=3D-Digitoxose+1Ac
R_2=Ac

Ib: Digacetigenin
R_1=H; R_2=Ac.

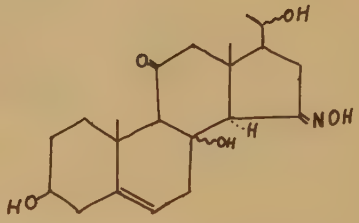
Ic: Desacetyl-digacetinin
R_1=3D-Digitoxose; R_2=H

Id: Digacetigeninacetat
R_1=R_2=Ac.

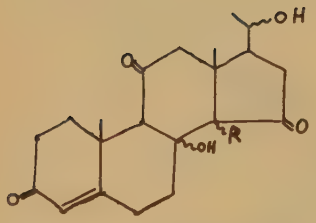
Ie: Desacetyl-digacetigenin
R_1=R_2=H



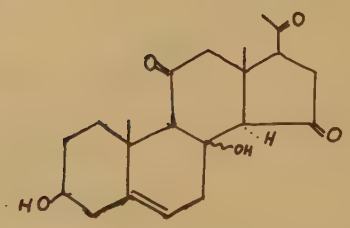
If: Digacetigenindiacetat



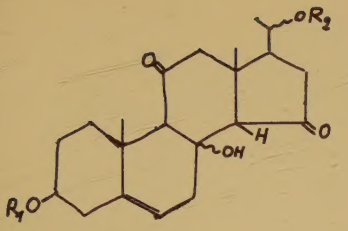
Ig: Desacetyl-digacetigenin-monoxim



IIIa: Δ^4-3-Dehydrodesacetyl-digacetigenin R=14αH
IIIb: Δ^4-3-Dehydroisodesacetyl-digacetigenin R=14βH



IV: 20-Dehydrodesacetyl-digacetigenin



IIa: Isodesacetyl-digacetigenin

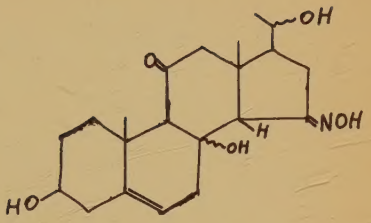
$R_1 = R_2 = H$

IIb: Isodigacetigeninacetat

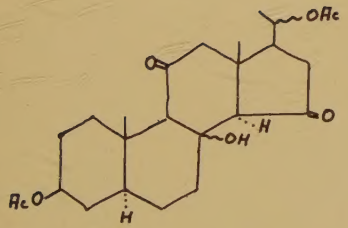
$R_1 = R_2 = Ac.$

IIc: Isodesacetyl-digacetinin

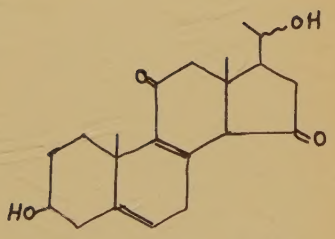
R_1 = 3D-Digitoxose; $R_2 = H$



IId: Isodesacetyl-digacetigenin-monoxim



V: Dihydrodigacetigenin-acetat



VI: Anhydrodesacetyl-digacetigenin